

[0046]

[Experiment 11]

<Moisture adsorption test on amorphous  $\alpha$ -D-glucosyl  $\alpha$ -D-galactoside>

In water was dissolved crystal  $\alpha$ -D-glucosyl  $\alpha$ -D-galactoside powder obtained in Experiment 3 to produce a 30% (w/w) aqueous solution and then the solution was freeze-dried to prepare an amorphous  $\alpha$ -D-glucosyl  $\alpha$ -D-galactoside powder. The obtained amorphous powder was put into plural weighing aluminum cans in the same manner as Experiment 10. Each can was placed in glass desiccators previously adjusted to have a relative humidity of 43% to 90%, and stored at 25°C for 1 to 7 days at a prescribed humidity. After the moisture adsorption test was completed, a moisture adsorption ratio (%) was determined in the same manner as Experiment 10. Also, properties of each sample were visually observed during the moisture adsorption test. Further, for the samples stored for 7 days, properties of each powder were observed by the powder X-ray diffractometry described in Experiment 4. Then, for the samples wherein crystals were observed, crystallinity degrees thereof were determined. Results are shown in Table 2.

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-269488

(P2004-269488A)

(43) 公開日 平成16年9月30日(2004.9.30)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

**C07H 3/04**  
**A23L 1/09**  
**A23L 1/236**  
**A23L 1/30**  
**C12P 19/18**

F 1

C07H 3/04  
A23L 1/09  
A23L 1/236  
A23L 1/30  
C12P 19/18

テーマコード(参考)

4 B 0 1 8  
4 B 0 4 1  
4 B 0 4 7  
4 B 0 6 4  
4 C 0 5 7

審査請求 未請求 請求項の数 15 O L (全 22 頁)

(21) 出願番号 特願2003-129801(P2003-129801)  
(22) 出願日 平成15年5月8日(2003.5.8)  
(31) 優先権主張番号 特願2002-166299(P2002-166299)  
(32) 優先日 平成14年6月6日(2002.6.6)  
(33) 優先権主張国 日本国(JP)  
(31) 優先権主張番号 特願2003-9056(P2003-9056)  
(32) 優先日 平成15年1月17日(2003.1.17)  
(33) 優先権主張国 日本国(JP)

(71) 出願人 000155908  
株式会社林原生物化学研究所  
岡山県岡山市下石井1丁目2番3号  
(72) 発明者 西本 友之  
岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物化学研究所内  
(72) 発明者 久保田 優夫  
岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物化学研究所内  
(72) 発明者 福田 恵温  
岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物化学研究所内  
F ターム(参考) 4B018 LB01 LB02 LB03 LB05 LB06  
LB07 LB08 LB09 MD29 MD87  
ME09 ME11 ME13 ME14 MF12  
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】結晶α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドとこれを含有する糖質及びこれらの製造方法並びに用途

## (57) 【要約】

【課題】吸湿性が低く、流動性を失い難い安定な結晶α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドとこれを含有する糖質並びにそれらの製造方法及び用途を提供することを課題とする。

【解決手段】融点が119°C乃至123°Cである結晶α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドとこれを含有する糖質、α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドを含有する溶液から結晶α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドを晶出させ、これを採取することを特徴とする結晶α-D-グルコシルα-D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質の製造方法、非晶質α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドを水分存在下で結晶α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドに変換する方法、及び結晶α-D-グルコシルα-D-ガラクトシドとこれを含有する糖質を含有せしめた各種組成物を確立することにより、前記課題を解決する。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項1】**

融点が119°C乃至123°Cである結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド。

**【請求項2】**

Cu K $\alpha$ 線をX線とする粉末X線回折法で分析したとき、少なくとも、回折角(2 $\theta$ )13.4°、17.4°、19.7°及び22.3°にピークを有する請求項1記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド。

**【請求項3】**

示差走査熱量計で分析したとき、約118°C乃至約138°Cの範囲に吸熱ピークを有する請求項1又は2記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド。

**【請求項4】**

結晶が、1含水結晶である請求項1乃至3のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド。

**【請求項5】**

請求項1乃至4のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含んでなる、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有する糖質。

**【請求項6】**

$\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有する溶液から請求項1乃至4のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを晶出させ、これを採取することを特徴とする請求項1乃至5のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質の製造方法。

**【請求項7】**

溶液が、水溶液である請求項6記載に記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質の製造方法。

**【請求項8】**

$\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドが、 $\beta$ -D-グルコース-1リン酸及び/又はその塩とD-ガラクトースに、トレハロースホスホリラーゼを作用させることにより生成したものである、請求項6又は7記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質の製造方法。

**【請求項9】**

$\beta$ -D-グルコース-1リン酸及び/又はその塩が、無機リン酸及び/又はその塩の存在下で、 $\alpha$ 、 $\alpha$ -トレハロースにトレハロースホスホリラーゼを作用させて生成させたものである請求項8記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質の製造方法。

**【請求項10】**

アルカリ処理法、酵母発酵法、及びカラムクロマトグラフィー法から選ばれる1種又は2種以上の方法で夾雜糖質を除去して $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの純度を高める工程を含む、請求項6乃至9のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質の製造方法。

**【請求項11】**

$\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有する溶液を乾燥して非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドとし、これを水分存在下で請求項1乃至4のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドに変換させ、これを採取することを特徴とする請求項1乃至5のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質の製造方法。

**【請求項12】**

$\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有する溶液を乾燥して非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドとし、これを水分存在下で請求項1乃至4のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドに変換させることを特徴とする、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシ

ドに変換する方法。

【請求項13】

請求項1乃至5のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質を含有せしめた組成物。

【請求項14】

請求項1乃至5のいずれかに記載の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質を含有せしめることを特徴とする組成物の製造方法。

【請求項15】

組成物が、飲食物、化粧品、医薬部外品、医薬品、生活用品、農林水産用品、試薬又は化学工業用品であることを特徴とする請求項1-3記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、融点が119°C乃至123°Cである結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドとこれを含有する糖質及びこれらの製造方法並びに用途、更には、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドに変換する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

【特許文献1】特開平10-304881号公報

【非特許文献1】シイ・ケイ・リー (C. K. Lee) ら、『カーボハイドレート・リサーチ (Carbohydrate Research)』、第50巻、152頁乃至157頁 (1976年)

【非特許文献2】アール・ダブリュー・バシリー (R. W. Bassily) ら、『カーボハイドレート・リサーチ (Carbohydrate Research)』、第239巻、197頁乃至207頁 (1993年)

【0003】

$\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドはグルコースとガラクトースとが $\alpha$ ,  $\alpha$ -1, 1結合した非還元性の二糖であり、 $\alpha$ ,  $\alpha$ -トレハロース (以下、単に「トレハロース」と言う。) の異性体である。本糖質に関しては、有機合成により得られたものが非特許文献1及び非特許文献2に開示され、加えて、非特許文献2においては、融点が165°C乃至170°Cである $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの1含水結晶についても記載されている。しかしながら、その製造方法は、煩雑な有機合成であって収率も低く、大量に調製することが難しく、その工業的生産はもとより用途開発に至っては全く検討されていなかった。その後、本出願と同じ出願人によって、トレハロースホスホリラーゼを用いた酵素法による $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの合成が特許文献1に開示され、大量調製への道が開かれた。

【0004】

$\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドは味質良好な甘味を有し、また、浸透圧調節性、保湿性、照付与性、他糖の結晶防止性、澱粉老化防止性などの諸性質を有し、また、抗う蝕性、ビフィズス菌増殖促進性、ミネラル吸収促進性などの機能をも兼備していることから、飲食物、嗜好物、飼料、餌料、化粧品、医薬部外品、医薬品などに、更には、生活用品、農林水産用品、試薬、化学工業用品などの各種組成物への用途が期待されている。しかしながら、非晶質の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドは、それ自体はもとより、これを含有する糖質においても、吸湿性が大きく、雰囲気中の水分を吸収して、容易に固結したり、潮解したり、また流動性を失い易いなど、安定性に問題があった。そのため、種々の有用性が期待されながら、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの各種分野への応用はなかなか進展しないというのがこれまでの状況であった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、吸湿性が低く、流動性を失い難い安定な結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドとこれを含有する糖質並びにそれらの製造方法及び用途を提供することを目的とする。

#### 【0006】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、吸湿性が低く、固結や潮解を起こし難く、流動性を失い難い、保存安定性の優れた $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを確立することを目的として鋭意研究する中、前記の酵素法により $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの結晶（以下、「結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド」と言う。）を得てその物理化学的性質を調べたところ、意外にも、この結晶の融点が119°C乃至123°Cであり、アール・ダブリュー・バシリ（R. W. Bassily）らによって非特許文献2に開示されている結晶とは全く異なることを見出した。この結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドは、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド固体を水分存在下で結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドに変換させて得ることのできる新規な結晶である。当該結晶は、Cu K $\alpha$ 線をX線とする粉末X線回折法で分析したとき、少なくとも、回折角（2 $\theta$ ）13.4°、17.4°、19.7°及び22.3°にピークを有する結晶である。また、当該結晶は、示差走査熱量計で分析したとき、約118°C乃至約138°Cの範囲に吸熱ピークを有する結晶である。さらに、当該結晶はカールフィッシャー法でその水分含量を分析したとき、結晶の結合水として1含水に相当する水分が検出され、また、KBr錠剤法で赤外線吸収スペクトルを測定したとき、図1に示すスペクトルを示す結晶である。

#### 【0007】

本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの製造方法について述べるに、原料として用いる $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの由来は問わず、例えば、有機合成法、醸酵法、酵素法などによって製造されたものであっても、また、微生物、動植物など天然物からの抽出法によって製造されたものであってもよい。一般的には、安全性や経済性の観点から、酵素法によって製造されたものが好ましく、例えば、特許文献1に記載されている、基質としての $\beta$ -D-グルコース-1-リン酸（糖供与体）とD-ガラクトース（糖受容体）とにトレハロースホスホリラーゼを作用させて得られる $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドは好適に用いることができる。

#### 【0008】

本発明は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを原料として用いるも、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド自体の製造方法に関する発明ではないことから、斯かる製造方法の詳細は割愛するが、酵素法によるその概略を述べれば、以下のとおりである。

#### 【0009】

$\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを製造するために用いるトレハロースホスホリラーゼは、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド生成能を有するトレハロースホスホリラーゼであればよく、例えば、特許文献1に開示された、サーモアナEROビウム（Thermoanaerobium）属に属する微生物であるサーモアナEROビウム・ブロッキイ（Thermoanaerobium brockii）（ATCC 35047）由来のトレハロースホスホリラーゼが、高い耐熱性を有する酵素であって、酵素反応を比較的高温で行うことができることから、酵素反応を効率的に実施できるとともに、微生物汚染を回避できる利点を有している。前記特許文献1に開示されたトレハロースホスホリラーゼは、下記に示す理化学的性質を有する酵素である。

##### （1）作用

- （a）無機リン酸存在下でトレハロースを分解してD-グルコース及び $\beta$ -D-グルコース-1-リン酸を生成する。
- （b） $\beta$ -D-グルコース-1-リン酸とD-グルコースとからトレハロースと無機リン酸を生成し、更に $\beta$ -D-グルコース-1-リン酸を糖供与体として、他の糖質にグルコシル基の転移を触媒する。

## ( 2 ) 分子量

S D S - ゲル電気泳動法で、88,000±5,000ダルトン。

## ( 3 ) 等電点 ( p I )

アンフォライン含有電気泳動法で、5.4±0.5。

## ( 4 ) 至適温度

p H 7.0、30分間反応で70°C付近に至適温度を有する。

## ( 5 ) 至適p H

60°C、30分間反応でp H 7.0乃至7.5付近に適p Hを有する。

## ( 6 ) 温度安定性

p H 7.0、1時間保持の条件で60°C付近まで安定。

## ( 7 ) pH 安定性

4°C、24時間保持の条件でp H約6.0乃至9.0で安定。

## ( 8 ) 活性促進、安定化

本酵素活性は、1 mMのジチオスレイトールで促進される。

## ( 9 ) 阻害

本酵素活性は、1 mM Cu<sup>++</sup>、Pb<sup>++</sup>、Zn<sup>++</sup>、Hg<sup>++</sup>、Mg<sup>++</sup>、又はMn<sup>++</sup>で阻害される。

## 【 0010 】

トレハロースホスホリラーゼを用いて  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドを製造する酵素反応に於いては、通常、 $\beta$ -D-グルコース-1リン酸を糖供与体とし、またD-ガラクトースを糖受容体として、これにトレハロースホスホリラーゼを作用させることにより、D-ガラクトースにグルコシル基を転移して、 $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドを生成する。糖供与体としての  $\beta$ -D-グルコース-1リン酸は、市販品をそのまま用いてもよく、また、無機質のリン酸及び/又はその塩の存在下で、トレハロースホスホリラーゼ、マルトースホスホリラーゼ、スクロースホスホリラーゼ、セロビオースホスホリラーゼなどのホスホリラーゼを、それらの基質としての糖質に作用させ、生成させることもできる。 $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドの生成率は、酵素反応に用いる基質の種類、濃度、反応条件などによって異なるが、一例として、無機リン酸存在下で、10% (w/w) のトレハロースと5% (w/w) のD-ガラクトースを基質として用いた場合の  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドの生成率は、原料固形物当り30% (w/w) 程度である。

## 【 0011 】

また、得られる反応液中の  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシド含量を高めるための微生物、酵素等を用いるD-グルコース分解除去法や、生成した  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドの純度を高めるための酵母発酵法、また、アルカリ処理法、膜済過法、カラムクロマトグラフィー法などによって、 $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドの純度を高めることができる。更に、必要に応じて、常法により、済過、脱色、脱塩などの精製工程を経た後、濃縮し、乾燥して、シラップ状又は粉末状  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質とすることもできる。斯くて得られた  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質は、通常、 $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドを固形物当たり5~99.9% (w/w) 含有している。

## 【 0012 】

本発明の結晶  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドは、前記した  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドを後述する適宜溶媒に溶解して、 $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシド含有溶液、具体的には、その過飽和溶液とし、この過飽和溶液から結晶  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドを晶出させる。この際用いる  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドの純度、固形分濃度、溶媒の種類、温度等は、 $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシド過飽和溶液が得られる限り特に制限はない。本発明の結晶  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドの製造方法に於いて用いる  $\alpha$ -D-グルコシル  $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有する溶液

の形態は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの結晶が生成する形態、即ち、溶けている状態であればよく、部分的に不溶物が混在した懸濁状であってもよい。更に、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有する粉末を吸湿させて粉末表面が潮解した溶液状であってもよい。 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを溶解する溶媒としては、通常、水が好適に用いられるが、必要に応じて、メタノール、エタノール、アセトン、ピリジンなどの水と相溶性を有する溶媒、又は、これら1種又は2種以上の有機溶媒と水とを組み合わせて用いることも随意である。本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの製造方法は、例えば、固体物当り、純度60% (w/w) 以上、濃度65乃至90% (w/w) の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有溶液を助晶缶にとり、必要に応じて、0.1乃至20% (w/w) の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド種晶共存下で、温度95°C以下、望ましくは、10乃至90°Cの範囲で、攪拌しつつ徐冷し、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有するマスキットとする。また、減圧濃縮しながら結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを晶出させる連続晶析法を採用することも有利に実施できる。マスキットから結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する含蜜結晶を製造する方法としては、例えば、分蜜法、ブロック粉碎法、流動造粒法、噴霧乾燥法など公知の方法を採用すればよい。

#### 【 0013 】

分蜜法の場合には、通常、マスキットをバスケット型遠心分離機にかけ、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドと蜜(母液)とを分離し、必要により、当該結晶に少量の冷水をスプレーして洗浄して不純物を除去して、より高純度の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを製造することができる。噴霧乾燥法の場合には、通常、濃度70乃至85% (w/w) 、晶出率5乃至60%程度のマスキットを、例えば、高圧ポンプでノズルから噴霧、又は回転円盤で噴霧し、結晶粉末が溶解しない温度、例えば、60乃至100°Cの熱風で乾燥し、次いで、20乃至60°Cの温風で約1乃至約48時間熟成することにより、低吸湿性の含蜜結晶を容易に製造できる。また、ブロック粉碎法の場合には、通常、水分5乃至20% (w/w) 、晶出率10乃至60% (w/w) 程度のマスキットを、約0.1乃至約7日間静置して全体をブロック状に晶出固化させ、これを粉碎又は切削などの方法によって粉末化し乾燥することにより、低吸湿性の含蜜結晶を容易に製造できる。

#### 【 0014 】

また、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの他の製造方法は、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドから結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを製造する方法である。この方法は、水分の存在下で、温度約20乃至約60°Cにコントロールした環境下に、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有する粉末を約0.1乃至約7日間、静置又は攪拌しながら非結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドに変換させ、これをそのまま、又は、粉碎又は切削などして再粉末化して乾燥することにより、低吸湿性の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末又はこれを含有する糖質を容易に製造できる。なお、この方法における、水分の存在下とは、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含水結晶に変換するために必要な水分が供給される環境であれば、特に制限はなく、通常は、相対湿度を約50乃至約70%にコントロールした環境をいう。

#### 【 0015 】

斯して得られる本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、通常、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを固体物当り50% (w/w) 以上、望ましくは、60~99.99% (w/w) 含有している。

#### 【 0016 】

本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、固体状、粉末状態で吸湿性が著しく低く、取り扱いが容易で、安定で、しかも、味質良好な甘味を有し、浸透圧調節性、保湿性、照付与性、他糖の結晶防止性、澱粉老化防止性などの

諸性質を有し、また、抗う蝕性、ビフィズス菌増殖促進性、ミネラル吸収促進性などの機能を有し、広く飲食物、嗜好物、飼料、餌料、化粧品、医薬部外品、医薬品などに、更には、生活用品、農林水産用品、試薬、化学工業用品などの各種組成物に有利に利用できる。

#### 【 0 0 1 7 】

本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、そのまま甘味付けのための調味料として使用することができる。必要ならば、例えば、粉飴、ブドウ糖、マルトース、トレハロース、蔗糖、異性化糖、蜂蜜、メイプルシュガー、ソルビトール、マルチトール、ラクチトール、ジヒドロカルコン、ステビオシド、 $\alpha$ -グリコシルステビオシド、レバウディオシド、グリチルリチン、L-アスパルチル-L-フェニルアラニンメチルエステル、スクロース、アセスルファムK、サッカリン、グリシン、アラニンなどのような他の甘味料の一種又は二種以上と適宜の割合で混合して用いることができる。また、必要ならば、デキストリン、澱粉、乳糖などの一種又は二種以上の增量剤と適宜の割合で混合して用いることもできる。

#### 【 0 0 1 8 】

また、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質の呈味は、酸味、塩から味、渋味、旨味、苦味などの他の呈味を有する各種物質とよく調和し、耐酸性、耐熱性も大きいので、飲食物一般の甘味付け、呈味改良に、また品質改良などに有利に利用できる。前記各種飲食物としては、例えば、醤油、粉末醤油、味噌、粉末味噌、もろみ、ひしお、ふりかけ、マヨネーズ、ドレッシング、食酢、三杯酢、粉末すし酢、中華の素、天つゆ、麺つゆ、ソース、ケチャップ、たくあん漬の素、白菜漬の素、焼肉のタレ、カレールウ、シチューの素、スープの素、ダシの素、複合調味料、みりん、新みりん、テーブルシュガー、コーヒーシュガーなどの各種調味料を例示できる。

#### 【 0 0 1 9 】

また、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、例えば、せんべい、あられ、おこし、餅類、まんじゅう、ういろう、あん類、羊羹、水羊羹、錦玉、ゼリー、カステラ、飴玉などの各種和菓子、パン、ビスケット、クラッカー、クッキー、パイ、プリン、バタークリーム、カスタードクリーム、シュークリーム、ワッフル、スポンジケーキ、ドーナツ、チョコレート、チューインガム、キャラメル、キャンデーなどの洋菓子、アイスクリーム、シャーベットなどの氷菓、果実のシロップ漬、氷蜜などのシロップ類、フラワーペースト、ピーナッツペースト、フルーツペースト、スプレッドなどのペースト類、ジャム、マーマレード、シロップ漬、糖果などの果実、野菜の加工食品類、福神漬、べったら漬、千枚漬、らっきょう漬などの漬物類、ハム、ソーセージなどの畜肉製品類、魚肉ハム、魚肉ソーセージ、かまぼこ、ちくわ、天ぷらなどの魚肉製品、ウニ、イカの塩辛、酢こんぶ、さきするめ、ふぐみりん干しなどの各種珍味類、のり、山菜、するめ、小魚、貝などで製造されるつくだ煮類、煮豆、ポテトサラダ、こんぶ巻などの惣菜食品、乳製品、魚肉、畜肉、果実、野菜のビン詰、缶詰類、清酒、合成酒、リキュール、洋酒などの酒類、紅茶、コーヒー、コカア、ジュース、炭酸飲料、乳酸飲料、乳酸菌飲料などの清涼飲料水、プリンミックス、ホットケーキミックス、即席しるこ、即席スープなどの即席食品、更には、離乳食、治療食、ドリンク剤、米飯、麺類、冷凍食品などの各種飲食物への甘味付に、呈味改良に、また、物性改良などに有利に利用できる。

#### 【 0 0 2 0 】

また、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、優れた保湿性を有することから、溶液系、可溶化系、乳化系、粉末分散系、水-油二層系、水-粉体二層系、水-油-粉末三層系などのどのような剤型の化粧品や医薬部外品の原料としても有利に利用できる。また、これらの化粧品や医薬部外品の用途も任意であり、例えば、化粧水、ローション、乳液、クリーム、軟膏、練り剤、懸濁剤、乳剤、ペースト、チック、固型、半固型、粉末、固型粉末、ゼリー、ジェル、エアゾール、トローチ、パック、フェイスマスクなどの形態で、基礎化粧品、洗浄用化粧品、化粧水、クリーム、

乳液、パック、ファンデーション、白粉打粉、口紅、眉目類化粧品、香水、浴用化粧品、浴用剤、口腔化粧品、日焼け・日焼け止め化粧品、メークアップ化粧品、フェーシャル化粧品、化粧油、芳香化粧品、ボディー用化粧品、頭髪用化粧品、洗髪用化粧品、石けん、薬用石けん、洗剤、歯みがき、口中清涼剤、腋臭防止剤、てんか粉、育毛・養毛剤、ひげそり用剤、日やけ止め剤、さらには、炎症、感染症、アレルギー、アトピー、潰瘍、腫瘍などの各種疾患の予防、治療剤などとして用いることができる。具体的には、洗顔クリーム、洗顔フォーム、クレンジングクリーム、クレンジングミルク、クレンジングローション、クレンジングオイル、マッサージクリーム、コールドクリーム、モイスチャークリーム、モイスチャーローション、乳液、化粧水、リキッドファンデーション、パウダーファンデーション、リップスティック、リップクリーム、パック、アフターシェービングクリーム、ローション、アフターシェービングローション、日焼け止めクリーム、日焼け用オイル、ボディシャンプー、ヘアシャンプー、ヘアリンス、ヘアトリートメント、養毛料、育毛料、チック、ヘアクリーム、ヘアリキッド、セットローション、ヘアスプレー、ヘアムース、ヘアダイ、ヘアブリーチ、カラーリンス、カラースプレー、バーマネントウェーブ液、プレスパウダー、ルースパウダー、アイシャドー、ハンドクリーム、脱毛クリーム、オーデコロン、デオドラント浴用剤、バスオイル、口中清涼剤、口中香剤、うがい剤、マウスウォッシュ、練歯磨、外傷治療用軟膏、抗菌クリーム、ステロイド軟膏、台所用洗剤などとして使用できる。

## 【0021】

また、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、安定な糖質であることから、通常、化粧品や医薬部外品に使用される、糖質、血行促進作用を有する物質、抗炎症作用を有する物質、抗菌作用を有する物質、保湿作用を有する物質、美白作用を有する物質、抗酸化作用を有する物質、感光素、紫外線吸収作用を有する物質、紫外線散乱作用を有する物質、乳化作用を有する物質から選ばれる何れか1種又は2種以上の物質との、任意の組合せ及び／又は配合割合で使用することが出来る。さらに、必要に応じて、例えば、化粧品原料基準、化粧品原料外成分基準、化粧品種別配合規格、医薬部外品原料規格、日本薬局方、日本薬局方外医薬品規格、医薬品添加物規格、日本薬局方外生薬規格、食品添加物公定書などに収載された成分や『最新化粧品科学 改訂増補Ⅱ』、株式会社薬事日報社発行（平成4年7月10日発行）や『最新化粧品学』、株式会社南山堂発行（平成14年1月18日発行）などに記載されている、上記作用を有する成分、及び／又は、上記作用を有する成分以外の通常医薬品、医薬部外品、化粧品などに用いられる物質やその配合処方に準じて、例えば、医薬品、賦形剤、基剤、エモリエント剤、冷感剤、収斂剤、分散剤、可溶化剤、溶剤、アルカリ剤、粘度調節剤、増粘剤、起泡剤、消泡剤、着香剤、着色剤、安定剤、防腐剤、殺菌剤、退色防止剤、酸化防止剤、毛髪処理剤、温潤剤、毛髪保護剤、帯電防止剤、助剤、溶剤、溶解剤、溶解補助剤、流動化剤、懸濁剤、緩衝剤、甘味剤、清涼化剤、矯味剤、結合剤、吸着剤、噴射剤、コーティング剤、咀嚼剤、充填剤、軟化剤、調整剤、金属封鎖剤、褪色防止剤、油脂、油溶性高分子、無機及び有機顔料、シリコーン又はフッ素化合物で処理された無機及び有機顔料、有機染料などの色剤、ルミンなどの感光色素、ロウ、制汗剤、消臭剤、抗シワ剤、皮脂抑制剤、抗脂漏剤、角質剥離剤、鎮痛剤、抗プラスミン剤などの成分から選ばれる1種又は2種以上を適宜使用することも随意である。

## 【0022】

その他、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、家畜、家禽、魚などの飼育動物のために飼料、餌料などの嗜好性を向上させる目的で使用することもできる。その他、固状、ペースト状、液状などの形態で、タバコ、練歯磨、口紅、リップクリーム、内服液、錠剤、トローチ、肝油ドロップ口中清涼剤、口中香剤、うがい剤などの嗜好物、医薬品などへの甘味剤として、又は呈味改良剤、矯味剤として、更には、品質改良剤として有利に利用できる。

## 【0023】

また、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドは、 $\alpha$ -D-ガラクトシル基を有する糖

質であることから、同じく $\alpha$ -D-ガラクトシル基を有するガラクトビオース、メリビオース又はラフィノースの場合と同様に、例えば、制癌、ナチュラル・キラー（NK）細胞の活性化、アトピー性皮膚炎の改善、免疫賦活、病原性大腸菌O-157ベロ毒素の中和、肝性脳症治療、ウシ精液の冷凍保存安定化、移植用臓器の輸送時の安定化などの作用効果及びこれら分野への用途が期待され、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、これらの目的で使用することも有利に実施できる。

#### 【0024】

更に、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、品質改良剤、安定剤として、有効成分の活性などを失い易い各種生理活性物質又はこれを含む健康食品、化粧品、医薬部外品、医薬品などにも有利に適用できる。例えば、インターフェロン- $\alpha$ 、インターフェロン- $\beta$ 、インターフェロン- $\gamma$ 、ツモア・ネクロシス・ファクター- $\alpha$ 、ツモア・ネクロシス・ファクター- $\beta$ 、マクロファージ遊走阻止因子、コロニー刺激因子、トランスファーファクター、インターロイキン1、インターロイキン2、インターロイキン6、インターロイキン12、及びインターロイキン15などのサイトカイン含有液、インシュリン、成長ホルモン、プロラクチン、エリトロポエチン、組織プラスミノーゲンアクチベーター、卵細胞刺激ホルモン、胎盤ホルモンなどのホルモン含有液、BCGワクチン、日本脳炎ワクチン、はしかワクチン、ポリオ生ワクチン、痘苗、破傷風トキソイド、ハブ抗毒素、ヒト免疫グロブリンなどの生物製剤含有液、ペニシリソ、エリスロマイシン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、硫酸カナマイシンなどの抗生素含有液、チアミン、リボフラビン、L-アスコルビン酸、肝油、カロチノイド、エルゴステロール、トコフェロール、などのビタミン含有液、リバーゼ、エラスターーゼ、ウロキナーゼ、プロテアーゼ、 $\beta$ -アミラーゼ、イソアミラーゼ、グルカナーゼ、ラクターゼなどの酵素含有液、薬用人参エキス、スッポンエキス、クロレラエキス、アロエエキス、プロポリスエキスなどのエキス類、ウイルス、乳酸菌、酵母などの生菌、ロイヤルゼリーなどの各種生理活性物質に本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質を適量配合することにより、それらの有効成分の活性を失うことなく、安定で高品質の健康食品、化粧品、医薬部外品や医薬品などを容易に製造できる。

#### 【0025】

本発明でいう組成物は、経口的又は非経口的に用いられる飲食物、化粧品、医薬部外品、医薬品の他、生活用品、農林水産用品、試薬、化学工業用品などの各種組成物を包含する。

#### 【0026】

また、これら組成物に、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質を含有せしめる方法は、その製品が完成するまでの工程で含有せしめればよく、例えば、混和、溶解、浸漬、浸透、散布、塗布、噴霧、注入、固化などの公知の方法が適宜選ばれる。これら各種組成物に配合する結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの量は、通常、組成物全重量当たり0.01% (w/w) 以上、望ましくは、0.1% (w/w) 以上、より望ましくは、1~99.99% (w/w) とする。

#### 【0027】

次に実験により本発明を更に具体的に説明する。

#### 【0028】

##### 【実験1】

###### <トレハロースホスホリラーゼの生産>

炭素源として0.5% (w/v) グルコースに代えて0.5% (w/v) トレハロースを用いたこと以外は全て『ATCCカタログ・オブ・バクテリア・アンド・バクテリオファージズ、第18版』(アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション発行、1992年)、452乃至456頁に記載のサーモアナエロビウム・ブロッキイ培地の調製法に従って調製した培地を100ml容耐圧ボトルに100mlずつ入れた後、サーモアナエロビウム・ブロッキイ (ATCC 35047) を接種し、60°C、48時間静置培養したも

のを種培養液とした。

#### 【0029】

容量11Lのステンレスボトル4本に、種培養で用いたのと同じ組成の培地を約10Lずつ入れて、加熱滅菌し、冷却して60℃とした後、前記種培養液をこの培地体積当たり1% (v/v) 接種し、60℃で、約40時間静置培養した。

#### 【0030】

全培養液約40Lを遠心分離して、培養菌体92gを得た。菌体を10mMリン酸緩衝液に懸濁し、超音波破碎した後、遠心分離して菌体破碎上清を得た。培養液m1当たりのトレハロースホスホリラーゼ活性は、0.3単位/m1であった。この菌体破碎上清をUF膜濃縮し、トレハロースホスホリラーゼをm1当たり約30単位含む濃縮酵素液約360m1を得た。

#### 【0031】

なお、トレハロースホスホリラーゼ活性は次のようにして測定した。即ち、基質として1.0% (w/v) トレハロースを含む20mMリン酸緩衝液 (pH7.0) 2m1に酵素液0.2m1を加え、60℃で30分間反応させた後、反応液0.5m1を100℃、10分加熱して反応を停止させた。この反応停止液にD-グルコースオキシダーゼ/パーオキシダーゼ試薬0.5m1を添加し、攪拌し、40℃で30分放置した後、5N-塩酸2.5m1を添加し、攪拌した後、525nmにおける吸光度を測定した。トレハロースホスホリラーゼ活性1単位は、上記反応条件下で、1分間当たり1μmoleのD-グルコースを生成する酵素量と定義した。

#### 【0032】

##### 【実験2】

###### ＜トレハロースホスホリラーゼの精製＞

実験1で得られた濃縮酵素液300m1を10mMリン酸緩衝液 (pH7.0) に対して24時間透析し、遠心分離して不溶物を除いた。その透析液上清 (380m1) を、『DEAE-トヨパール 650ゲル』(東ソー株式会社製) を用いたイオン交換カラムクロマトグラフィー (ゲル量380m1) にかけた。

#### 【0033】

トレハロースホスホリラーゼをDEAE-トヨパール 650ゲルに吸着させ、食塩濃度が0Mから0.5Mまで上昇するリニアグラジエント (食塩水) により、カラムから溶出させた。食塩濃度約0.1Mで溶出される酵素活性画分を回収した後、この画分を以下の方法で更に精製した。1.5M硫安を含む10mMリン酸緩衝液 (pH7.0) に対して透析し、その透析液を遠心分離して不溶物を除き、次に、『ブチルトヨパール 650ゲル』(東ソー株式会社製) を用いる疎水カラムクロマトグラフィー (ゲル量100m1) を行った。吸着したトレハロースホスホリラーゼを硫安濃度1.5Mから0.5Mまで低下するリニアグラジエントにより、カラムから溶出させ、酵素活性画分を回収した。次いで、『ウルトログル Aca44』(フランス、セプラコル社製) を用いてゲル沪過クロマトグラフィー (ゲル量300m1) をを行い、カラムから溶出した酵素活性画分を回収した。

#### 【0034】

以上の精製手段により得られた精製酵素標品の回収率は、トレハロースホスホリラーゼ活性換算で、菌体破碎上清に対して約25%であり、精製酵素標品の比活性は、蛋白質mg当たり78.2単位であった。

#### 【0035】

精製酵素標品を濃度7.5% (w/v) のポリアクリルアミドを含むゲル電気泳動により当該酵素標品の純度を検定したところ、单一の蛋白バンドを有する高純度標品であった。

#### 【0036】

##### 【実験3】

###### ＜ $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの調製＞

トレハロースを4.5% (w/w) 、D-ガラクトースを2.5% (w/w) 及び5mM

のリン酸二水素ナトリウムを含む水溶液をpH5.0に調整し、これに実験2の方法で調製した精製トレハロースホスホリラーゼをトレハロース1g当たり17単位となるように加えて、60°Cで96時間反応させた。この反応液を90°Cで30分間加熱し、酵素を失活させた後、冷却した。この反応液中の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド純度を調べるために、反応液の一部を乾固し、ピリジンに溶解した後、トリメチルシリル化し、ガスクロマトグラフィー（以下、『GC』と略称する。）に供した。GCカラムは、2%シリコンOV-17/クロモゾルブW（ジー・エル・サイエンス株式会社製）を充填したステンレスカラム（3mmφ×2m）、キャリアーガスは、窒素ガスを流量40ml/分、カラムオーブン温度は、160°Cから320°Cまで7.5°C/分の昇温速度とし、検出は、水素炎イオン化検出器を用いて分析したところ、当該反応液は、固体分当り $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを約30%（w/w）含有していた。この反応液に市販パン酵母を固体物重量当たり湿重量で30%になるように加えて、濃度1Mの水酸化ナトリウム水溶液を用いて反応液をpH5乃至6に制御しながら、27°Cで6時間保持し、反応液中のD-グルコースを資化させた。その後、パン酵母を遠心分離により除き、得られる上清を、濃度1Mの水酸化ナトリウム水溶液を用いてpH7.5に調整した後、『応用糖質科学会誌』、第42巻、231乃至236頁（1995年）に記載の方法により調製したバチルス・エスピー（Bacillus sp.）T3由来のトレハラーゼを、固体物1グラム当り10単位加え、45°Cで24時間反応させて、溶液中のトレハロースをD-グルコースに加水分解した。次いで、得られた反応液を約100°Cに加熱し、粒状の水酸化ナトリウムを少量、小分けして添加し、pHを10乃至11に保ちながら、約100°Cで1時間保持し、D-グルコースなどの還元糖を分解した。得られる溶液を塩酸で中和した後、常法に従って活性炭で脱色し、沪過し、H型及びOH型イオン交換樹脂により脱塩して精製し、更に濃縮して固体物濃度約80%（w/w）のシラップを原料固体物当たり収率約25%で得た。GC法で分析したところ、本シラップ中には、固体分当り $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを88.1%（w/w）、グリセロールを7.5%（w/w）、トレハロースを1.0%（w/w）及びその他の糖質を3.4%（w/w）含有していた。本シラップをガラス板上に広げ、それを恒温器内に入れ、常圧下、40°Cで2日間放置したところ、図2の写真に示すような柱状の結晶状物質が生成した。この結晶状物質を含む試料の全量をガラス製乳鉢にとり、更に、100mlの85%（v/v）エタノール水溶液を加え、結晶状物質を砕きながら洗浄した。これをガラス製フィルター上に移し、吸引沪過し、フィルター上に残った結晶状物質を、更に、100mlの85%（v/v）エタノール水溶液で洗浄し、吸引沪過した。フィルター上の結晶状物質を回収し、40°Cで16時間真空乾燥して、粉末状の結晶状物質を原料固体分当り収率約17%で得た。得られた結晶状粉末をGC法で分析したところ、固体分当り $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを98.4%（w/w）含有していた。

## 【0037】

## 【実験4】

## &lt;粉末X線回折による分析&gt;

実験3で得た $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの結晶状粉末を試料として、粉末X線回折装置（商品名『ガイガーフレックス RAD-II X』、理学電機株式会社製造）を用いて、CuK $\alpha$ 線をX線とする粉末X線回折法で分析し、少なくとも、回折角（2 $\theta$ ）13.4°、17.4°、19.7°及び22.3°にピークを有するX線回折スペクトル（図3）を得た。本X線回折装置に付属するコンピュータプログラム『Rulian法による結晶化度解析プログラム』を用いて、当該粉末の結晶化度を計算したところ、約72.5%であった。これらの結果から、本粉末は、CuK $\alpha$ 線をX線とする粉末X線回折法で分析したとき、少なくとも、回折角（2 $\theta$ ）13.4°、17.4°、19.7°及び22.3°にピークを有する結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドであることが判明した。

## 【0038】

## 【実験5】

## &lt;水分測定&gt;

実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を試料として、カールフッシャー法で水分を測定したところ、その水分は5.4% (w/w) であった。結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド1含水結晶としての理論水分値が5% (w/w) であることから、実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドは、1含水結晶であると結論された。

## 【0039】

## 【実験6】

## &lt;融点測定&gt;

実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を試料として、融点測定装置（商品名『MP-21』、ヤマト科学株式会社製造）を用いて融点を測定したところ、その融点は、119°C乃至123°Cであることが判明した。この値は非特許文献2に開示された $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの結晶の融点である165°C乃至170°Cとは明らかに異なることから、実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドと非特許文献2に開示された結晶とは全く異なるものであるといえる。

## 【0040】

## 【実験7】

## &lt;赤外線吸収スペクトル測定&gt;

実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を試料として、赤外分光光度計（商品名『FTIR-8200』、株式会社島津製作所製造）を用いて、KBr錠剤法で測定したところ、図1に示す赤外線吸収スペクトルが得られた。

## 【0041】

## 【実験8】

## &lt;示差走査熱量計 (DSC) による分析&gt;

実験3で得た $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの結晶状粉末4.4mgをアルミニウム容器に入れて密封し、示差走査熱量計（商品名『DSC-2200』、セイコーアイソツルメンツ株式会社製造）を用いてDSC分析を行った。DSC分析は、30°Cから200°Cまでの温度範囲で毎分10°Cずつ昇温させる温度プログラムにて行った。得られた分析結果を図4に示した。本粉末は、上記条件下でDSC分析したとき、約118°C乃至約138°Cの範囲に吸熱ピークを有することが判明した。

## 【0042】

## 【実験9】

## &lt;水に対する飽和濃度&gt;

蒸留水10mlに、実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を過剰量入れ、25°C又は40°Cで48時間攪拌した後、水溶液中の未溶解物を0.45μmフィルターで汎別し、汎液（飽和溶液）をそれぞれ回収した。得られた二種類の飽和溶液の水分量を『食品衛生検査指針』（厚生省監修、（社）日本食品衛生協会出版、1991年）に記載の乾燥助剤法を用いて測定することにより、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの飽和濃度を求めた。その結果、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの水に対する飽和濃度は、無水物換算で、25°Cで68.9% (w/w) 、40°Cで71.8% (w/w) であることが判明した。

## 【0043】

## 【実験10】

<結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの吸湿試験>

予め精秤しておいた複数のアルミ製秤量缶に、実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を約0.5gずつ入れてそれぞれ精秤し、その全重量から秤量缶の重量を差し引いた重量を、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末の試験開始重量とした。結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末の入った秤量缶を、予め相対湿度33%乃至90%に調湿しておいたガラス製デシケーター内にそれぞれ入れ、所定の湿度に保ちながら、25°Cで1乃至7日間保存した。吸湿試験終了後、各秤量缶を精

秤して、試験開始重量に対する重量増加分を計算し、吸湿量(%)を求めた。また、吸湿試験中、結晶粉末の性状を肉眼観察した。それらの結果を表1にまとめた。

## 【0044】

【表1】

相対湿度 (%)	保存1日		保存2日		保存3日		保存7日	
	吸湿量 (%)	性状	吸湿量 (%)	性状	吸湿量 (%)	性状	吸湿量 (%)	性状
90	6.9	一部潮解	11.8	一部潮解	19.2	潮解	42.1	潮解
84	3.2	固結	4.4	固結	6.1	固結	11.0	固結
75	0.1	変化なし	0.1	変化なし	0.1	変化なし	0.2	変化なし
60	0.1	変化なし	0.1	変化なし	0.1	変化なし	0.2	変化なし
53	0.0	変化なし	0.0	変化なし	0.0	変化なし	0.1	変化なし
43	0.0	変化なし	0.0	変化なし	0.0	変化なし	0.0	変化なし
33	0.0	変化なし	0.0	変化なし	0.0	変化なし	0.0	変化なし

## 【0045】

表1の結果から明らかなように、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末は、相対湿度90%及び84%の保存条件下では吸湿して、潮解又は固結したけれども、相対湿度75%以下の保存条件下では吸湿せず、結晶粉末の性状に変化が見られなかった。この結果と、後述する実験11の表2に示す非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末の吸湿試験結果とを対比すると、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末は、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末と比べ、吸湿し難い安定な結晶粉末であることが解る。

## 【0046】

## 【実験11】

<非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの吸湿試験>

実験3で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を水に溶解して濃度30% (w/w) 水溶液とした後、凍結乾燥して、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を調製した。得られた非晶質粉末を実験10の方法と同様にして、複数のアルミ秤量缶に入れ、予め相対湿度43%乃至90%に調湿しておいたガラス製デシケーターにそれぞれ入れ、所定の湿度に保ちながら、25°Cで1乃至7日間保存した。吸湿試験終了後、実験10と同様にして、吸湿量(%)を求めた。また、吸湿試験中、各々の粉末の性状を肉眼観察した。さらに、保存7日目の試料については、実験4に記載の粉末X線回折法により、各々の粉末の性状を確認し、結晶が認められたものはその結晶化度を測定した。それらの結果を表2にまとめた。

## 【0047】

【表2】

相対湿度 (%)	保存1日		保存7日			結晶化度 (%)	
	吸湿量 (%)	性状	吸湿量 (%)	性状			
		肉眼観察		肉眼観察	X線回析法		
90	13.2	一部潮解	36.2	潮解	—	—	
60	3.1	表面が湿潤	2.0	固化	1含水結晶	71	
53	3.5	表面が湿潤	1.8	固化	1含水結晶	67	
43	4.5	固結	6.3	固結	非晶質	—	

## 【0048】

表2の結果から明らかなように、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末は、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末とは違って、相対湿度43~90%の保存条件下で著しく吸湿し、固結、湿潤、固化又は潮解して、粉末の性状が経時的に大きく変化することが判明した。詳細には、相対湿度60%及び53%の保存条件下では、保存1日目において粉末表面が湿潤し、保存7日目では粉末全体が固化していた。固化し

た試料を分析したところ、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドが、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド1含水結晶に変化していることが判明した。この結晶の融点を測定したところ、119°C乃至123°Cであった。また、相対湿度43%では、非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末は、吸湿し粉末全体が固結していたが、非晶質の状態は保たれていた。なお、本実験において認められた $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの結晶は、水分を吸収して結晶に変換したこと、及び、そのX線解析のパターンが、実験4で測定した $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド1含水結晶のそれと一致したことから、1含水結晶であると結論された。

#### 【0049】

以上の結果から、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末は、相対湿度75%以下の条件下に於いて、実質的に吸湿せず、性状が安定しており、取り扱いが容易であることが判明した。即ち、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末は、従来の非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末と比べ、優れた耐吸湿性を有していることが判明した。

#### 【0050】

以下、実施例Aにより本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの製造方法を説明する。

#### 【0051】

##### 【実施例A-1】

###### 〈結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末〉

トレハロースを5% (w/w)、D-ガラクトースを2.5% (w/w) 及び5 mMのリン酸二水素ナトリウムを含む水溶液をpH 5.0に調整し、これに実験1の方法で調製したトレハロースホスホリラーゼをトレハロース1 g当たり15単位になるように加え、60°Cで72時間反応させた。得られた反応液を95°Cで30分間加熱し、酵素を失活させた後、温度45°Cに冷却し、pHを7.5に調整し、これにバチルス・エスピー (Bacillus sp.) T3由来のトレハラーゼ (株式会社林原生物化学研究所製造) を固形物1グラム当たり10単位加え、45°Cで24時間反応させた。得られた反応液を90°Cで30分間加熱し、酵素を失活させた後、市販パン酵母を固形物重量当たり湿重量で5%となるように加えて、1N-水酸化ナトリウム溶液を用いて反応液をpH 5乃至6に制御しながら、27°Cで6時間保ち、反応液中のD-グルコースを資化させた。パン酵母を遠心分離により取り除いた上清を、常法に従って、活性炭で脱色し、沪過し、H型及びOH型イオン交換樹脂により脱塩して精製し、更に濃縮して、固形物濃度約45% (w/w) の糖液を得た。本糖液中の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有率を高めるため、アルカリ金属型強酸性カチオン交換樹脂 (ローム・アンド・ハース・ジャパン株式会社製、商品名『XT-1016』、Na型、架橋度4%) を使用し、内径3cm、長さ1mのジャケット付きステンレス製カラム4本に水に懸濁して充填し、直列につなぎ、樹脂層全長が約4mになるようにした。カラム内温度を40°Cに維持しつつ、糖液を樹脂に対して5% (v/v) 加え、これに40°Cの温水をSVO. 15の流速で流して分画し、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド高含有画分を採取し、これを、濃度約85% (w/w) に濃縮して助晶機にとり、種晶としての本発明の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド1含水結晶粉末を約1% (w/w) 加え、攪拌しつつ徐冷し、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを晶出させた。次いで、バスケット型遠心分離機で分離し、結晶を少量の水でスプレーして洗浄し、乾燥して、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を原料固形物当たり収率約10%で得た。

#### 【0052】

本品は、固形物当たり結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを約99% (w/w) 含有する結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末であり、融点を測定したところ、119°C乃至123°Cであった。本品は吸湿性が低く、取り扱いが容易で、実質的に還元性を示さず、安定で、味質良好な甘味、適度の粘度、保湿性を有し、甘味剤、呈味改良剤、安定剤、ビフィズス菌増殖促進剤、ミネラル吸収促進剤などとして、広く飲食物

、化粧品、医薬部外品、医薬品、生活用品、農林水産用品、試薬、化学工業用品など各種組成物に有利に利用できる。

#### 【0053】

##### 【実施例A-2】

###### ＜結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末＞

トレハロース及びD-ガラクトースをそれぞれ5% (w/w) 及び5 mMのリン酸二水素ナトリウムを含む水溶液をpH 5.0に調整し、これに実験1の方法で調製したトレハロースホスホリラーゼをトレハロース1g当たり15単位となるように加え、60°Cで72時間反応させた。得られた反応液を95°Cで30分間加熱し、酵素を失活させた後、45°Cに冷却し、pHを7.5に調整し、これにバチルス・エスピー (Bacillus ssp.) T3由来のトレハラーゼ（株式会社林原生物化学研究所製造）を固形物1グラム当たり10単位加え、45°Cで24時間反応させた。その反応液に水酸化ナトリウムを加えてpH 10以上のアルカリ性に保ちながら100°Cで加熱した後、冷却し、常法に従って活性炭で脱色、済過し、H型及びOH型イオン交換樹脂により脱塩して精製し、更に濃縮して、固形物濃度約45% (w/w) の糖液を得た。本糖液の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有率を高めるため、実施例A-1に記載のアルカリ金属型強酸性カチオン交換樹脂によるカラム分画を行い、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド高含有画分を採取し、これを精製し、更に、濃度約85% (w/w) に濃縮して助晶機にとり、種晶としての $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド1含水結晶粉末約2% (w/w) を加えて徐冷し、晶出率約10%のマスキットを得た。本マスキットを乾燥塔上のノズルより150 kg/cm<sup>2</sup>の高圧にて噴霧した。これと同時に、80°Cの熱風を乾燥塔の上部より送風して底部に設けた移送網コンペア上に捕集し、コンペアの下より40°Cの温風を送りつつ、金網コンペア上に捕集した結晶粉末を乾燥塔外に徐々に移動させ取り出した。この取り出した結晶粉末を、熟成塔に充填して温風を送りつつ10時間熟成させ、結晶化と乾燥を完了し、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末を原料固形物当たり収率約12%で得た。

#### 【0054】

本品は、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを固形物当たり約98%含有する粉末であり、融点を測定したところ、119°C乃至123°Cで、DSC分析において約118°C乃至約138°Cの範囲に吸熱ピークを示した。また、本品は、吸湿性が低く、取り扱いが容易で、還元性がなく、安定で、味質良好な甘味、適度の粘度、保湿性を有し、甘味剤、呈味改良剤、安定剤、ビフィズス菌増殖促進剤、ミネラル吸収促進剤などとして、広く飲食物、化粧品、医薬部外品、医薬品、生活用品、農林水産用品、試薬、化学工業用品など各種組成物に有利に利用できる。

#### 【0055】

##### 【実施例A-3】

###### ＜結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質粉末＞

トレハロース4% (w/w) 、D-ガラクトース6% (w/w) 及び5 mMのリン酸二水素ナトリウムを含む水溶液をpH 5.0に調整し、これに実験1の方法で調製したトレハロースホスホリラーゼをトレハロース1g当たり20単位となるように加え、60°Cで72時間反応させた。得られた反応液を95°Cで30分間加熱し、酵素を失活させた後、温度45°Cに冷却し、pHを7.5に調整し、それにバチルス・エスピー (Bacillus ssp.) T3由来のトレハラーゼ（株式会社林原生物化学研究所製造）を固形物1グラム当たり20単位加え、45°Cで24時間反応させた後、温度27°Cに冷却した。続いて市販パン酵母を固形物重量当たり温重量で10%となるように加えて、1N-水酸化ナトリウム溶液を用いて当該反応液をpH 5乃至6に制御しながら、27°Cで12時間保ち、反応液中のD-グルコースを資化させた。パン酵母を遠心分離により取り除いた後、得られる上清を常法に従って活性炭で脱色し、済過し、H型及びOH型イオン交換樹脂により脱塩して精製し、更に濃縮して、固形物濃度約45% (w/w) の糖液を得た。本糖液の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有率を高めるため、実施例A-1に記載のア

ルカリ金属型強酸性カチオン交換樹脂によるカラム分画を行い、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有画分を採取し、これを、濃度約8.5% (w/w) に濃縮して助晶機にとり、種晶としての $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド1含水結晶粉末約1%混合した後、バットにとり、25°Cで5日間静置して $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを晶出固化させ、次いで切削機にて粉碎し、乾燥して、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質粉末を原料固体物当たり収率約13%で得た。

## 【0056】

本品は、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを固体物当たり約8.8%含有する粉末状糖質で、DSC分析において、約118°C乃至約138°Cの範囲に吸熱ピークを示した。この特徴は、融点119°C乃至123°Cを有する本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの特徴と一致していた。また、本品は、吸湿性が低く、取り扱いが容易で、還元性がほとんどなく、安定で、味質良好な甘味、適度の粘度、保湿性を有し、甘味剤、呈味改良剤、安定剤、ビフィズス菌増殖促進剤、ミネラル吸収促進剤などとして、広く飲食物、化粧品、医薬部外品、医薬品、生活用品、農林水産用品、試薬、化学工業用品など各種組成物に有利に利用できる。

## 【0057】

## 【実施例A-4】

＜結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質粉末＞

トレハロースを10% (w/w)、D-ガラクトースを5% (w/w) 及び5mMのリン酸二水素ナトリウムを含む水溶液をpH 5.0に調整し、これに実験1の方法で調製したトレハロースホスホリラーゼをトレハロース1g当たり30単位となるように加え、60°Cで90時間反応させた。得られた反応液を95°Cで30分間加熱し、酵素を失活させた後、温度45°Cに冷却し、pHを7.5に調整し、それにバチルス・エスピー (Bacillus sp.) T3由来のトレハラーゼ (株式会社林原生物化学研究所製造) を固体物1グラム当たり20単位加え、45°Cで24時間反応させた。得られた反応液を90°Cで30分間加熱し、酵素を失活させた後、冷却し、常法に従って活性炭で脱色し、沪過し、H型及びOH型イオン交換樹脂により脱塩して精製し、更に濃縮して固体物濃度約4.5% (w/w) の糖液を得た。本糖液の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有率を高めるため、実施例A-1に記載のアルカリ金属型強酸性カチオン交換樹脂によるカラム分画を行い、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有画分を採取し、常法に従って活性炭で脱色し、沪過し、H型及びOH型イオン交換樹脂により脱塩して精製し、真空乾燥し、粉碎し、得られた非晶質 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有粉末をアルミ製バットに広げて、25°Cで相対湿度60%の恒温調湿室に5日間静置して、粉末中の $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを結晶化させ、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質粉末を原料固体物当たり収率約20%で得た。

## 【0058】

本品は、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを固体物当たり約7.0%含有する粉末状糖質であり、DSC分析において、約118°C乃至約138°Cの範囲に吸熱ピークを示した。この特徴は、融点119°C乃至123°Cを有する本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの特徴と一致していた。また、本品は、吸湿性が低く、取り扱いが容易で、味質良好な甘味、適度の粘度、保湿性を有し、甘味剤、呈味改良剤、安定剤、ビフィズス菌増殖促進剤、ミネラル吸収促進剤などとして、広く飲食物、化粧品、医薬部外品、医薬品、生活用品、農林水産用品、試薬、化学工業用品など各種組成物に有利に利用できる。

## 【0059】

次に、実施例Bにより、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド又はこれを含有する糖質を含有せしめた組成物について説明する。

## 【0060】

## 【実施例B-1】

＜甘味剤＞

実施例A-2の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末1重量部に対し、 $\alpha$ -グリコシルステビオシド（東洋精糖株式会社製造、商品名『 $\alpha$ -Gスィート』）0.05重量部を加えて均一に混合して粉末甘味剤を製造した。本品は、上品な甘味で、砂糖の約2倍の甘味を有し、カロリーは甘味度当たり砂糖の約2分の1である。したがって、本品は、低カロリー甘味料として、カロリーの摂取を制限している人、例えば、肥満者、糖尿病者用の低カロリー飲食物への味付けに好適に用いることができる。また、本品は、虫歯誘発菌による酸の生成も少なく、不溶性グルカンの生成も少ないことから、虫歯を抑制する飲食物などの味付けにも好適に用いることができる。

## 【0061】

## 【実施例B-2】

## &lt;ハードキャンディー&gt;

実施例A-4の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質20重量部に対し、還元麦芽糖水飴（水分25%（w/w））80重量部及び適量の水を加えて混合し溶解し、減圧下で水分が2%（w/w）未満になるまで濃縮し、これにクエン酸1重量部及び適量のレモン香料と着色料とを混和し、次いで、常法に従って成形してハードキャンディーを製造した。本品は、上品な甘味を有し、吸湿性少なく、ダレを起こしにくい歯切れの良いハードキャンディーである。

## 【0062】

## 【実施例B-3】

## &lt;チューインガム&gt;

実施例A-3の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質4重量部に対し、D-グルコース3重量部及び、柔らかくなる程度に加熱溶融したガムベース2重量部を加えて混合し、更に適量のハッカ香料を混合した後、常法に従ってロールにより練り合わせて成形してチューインガムを製造した。本品は、テクスチャー、風味ともに優れた製品である。

## 【0063】

## 【実施例B-4】

## &lt;チョコレート&gt;

実施例A-4の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質15重量部に対し、カカオペースト40重量部、カカオバター10重量部、蔗糖10重量部及び全脂粉乳15重量部を加えて混合し、レファイナーを通した。そして粒度を下げた後、コンチョに入れ、レシチン0.5重量部を加えて、50℃で二昼夜練り上げた。次いで、常法に従い成型機に流し込み成型固化してチョコレートを製造した。本品は、ファットブルーム、シュガーブルームの恐れがなく、舌にのせた時の融け具合、風味ともに良好である。

## 【0064】

## 【実施例B-5】

## &lt;カスタードクリーム&gt;

実施例A-4の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質400重量部に対し、コーンスター $\gamma$ 500重量部、マルトース500重量部及び食塩5重量部を加え、篩いを通して充分に混合し、更に鶏卵1,400重量部を加えて攪拌し、これに沸騰した牛乳5,000重量部を徐々に加えた後、とろ火にかけて攪拌を続け、コーンスター $\gamma$ が完全に糊化して全体が半透明になったとき火を止め、次いで、冷却して少量のバニラ香料を加えてカスタードクリームを製造した。本品は、なめらかで光沢を有し、甘味が強すぎず美味である。

## 【0065】

## 【実施例B-6】

## &lt;ういろう&gt;

実施例A-4の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質70重量部に対し、米粉90重量部、コーンスター $\gamma$ 20重量部、砂糖20重量部、抹茶粉末1

重量部及び水の適量を加えて混練した後、これを容器に入れて60分間蒸して抹茶ういろうを製造した。本品は、照り、口当たり良好で、風味もよいものであった。また、澱粉の老化も抑制され、長期間安定であった。

## 【0066】

## 【実施例B-7】

## &lt;べったら漬&gt;

実施例A-3の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質1重量部に対し、マルトース3重量部、甘草製剤0.05重量部、リンゴ酸0.008重量部、グルタミン酸ナトリウム0.07重量部、ソルビン酸カリウム0.03重量部及びブルラン0.2重量部を均一に混合してべったら漬の素を製造した。大根30kgを常法に従って食塩により下漬けし、次いで砂糖で中漬けしたものを、ここで得たべったら漬の素4kgで調製した調味液に漬けて、べったら漬を製造した。本品は、色艶、香氣ともに良好で、適度の甘味を有し歯切れも良かった。

## 【0067】

## 【実施例B-8】

## &lt;乳酸菌飲料&gt;

実施例A-4の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質100重量部に対し、脱脂粉乳175重量部及びラクトスクロース高含有粉末（株式会社林原商事販売、登録商標『乳果オリゴ』）50重量部を、水1,200重量部に溶解し、65℃で30分間殺菌し、40℃に冷却後、これに、常法に従って、乳酸菌スターを30重量部植菌し、37℃で8時間培養して乳酸菌飲料を得た。本品は、オリゴ糖を含有し、乳酸菌を安定に保持するだけでなく、ビフィズス菌増殖促進作用を有する風味良好な乳酸菌飲料である。

## 【0068】

## 【実施例B-9】

## &lt;石けん&gt;

重量比4対1の牛脂及びヤシ油を通常のけん化・塩析法に供して得られるニートソープ96.5重量部に、実施例A-3の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質1.5重量部、L-アスコルビン酸2-グルコシド0.5重量部、白糖0.5重量部、糖転移ルチン（東洋精糖株式会社販売、商品名「 $\alpha$ Gルチン」）0.5重量部、マルチトール1重量部、感光素201号0.0001重量部と、適量の香料を加え、均一に混合した後、棒に流し込み、冷却・固化させて石鹼を製造した。本品は、L-アスコルビン酸2-グルコシドによる美白効果に優れ、さらに、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質を含有しているので、使用後も肌がかさつくことなく、使用感に優れた石けんである。

## 【0069】

## 【実施例B-10】

## &lt;入浴剤&gt;

硫酸ナトリウム44重量部、炭酸水素ナトリウム14重量部、炭酸ナトリウム7重量部、コハク酸21重量部、A-4の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質5重量部と、適量の滑沢剤、色素及び香料を加え、均一に混合した後、打錠して入浴剤を製造した。本品は、浴槽に入れると発生する炭酸ガスによる血行促進効果に優れ、さらに、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質を含有しているので、入浴後も肌がべた付くことなく、保湿性もよい、使用感に優れた浴用剤である。

## 【0070】

## 【実施例B-11】

## &lt;ヘアトニック&gt;

エタノール50重量部、ポリオキシエチレン（8モル）オレエート1.5重量部、ヒノキチオール0.1重量部、グリチルリチン1.0重量部、感光素301号0.01重量部、トレハロース5重量部、実施例A-1の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラ

クトシド粉末8重量部、エチルパラベン0.1重量部、香料0.05重量部、精製水適量を加えて、常法によりヘアトニックを調製した。本品は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有しているので保湿性に優れ、使用後も肌がべた付くことなく、使用感に優れヘアトニックである。

## 【0071】

## 【実施例B-12】

## &lt;日焼け止め用ジェル&gt;

約55°Cに加温した適量の精製水に、ポリアクリル酸系高分子（住友精化株式会社販売、商品名「アクペックHV505」）1.0重量部を分散させ、40°C以下に冷却後、L-アスコルビン酸2-グルコシド2.0重量部を適量の水に溶解したものを添加し、水酸化カリウム0.9重量部を加えて、pH6.3とした。これに、実施例A-2の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末1.0重量部、濃グリセリン6.0重量部、1,3-ブチレンジコール2.0重量部、ジプロピレングリコール3.0重量部、ソルビトール1.3重量部、ポリエチレンジコール(400)1.5重量部、1,2-ペンタンジオール3.1重量部を加えて溶解し、精製水を加えて総量を100重量部として、日焼け止め用ゲルを調製した。本品は美白効果に優れたゲル化粧品である。また、本品は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有していることから保湿性に優れている。さらに、ジプロピレングリコールとポリエチレンジコールを配合し、pHが5.9~7.0の間に保持することにより、L-アスコルビン酸2-グルコシドを配合したジェルで見られる塗布後のヨレや垢の発生もなく、透明で塗り心地もよく、塗布後のもべタ付き感がなく、使用感に優れている。また、本品は、長期間保存しても、pH変化、粘度低下、着色の認められない安定なジェルである。

## 【0072】

## 【実施例B-13】

## &lt;化粧水&gt;

グリチルリチン酸ジカリウム0.2重量部、クエン酸0.1重量部、クエン酸ナトリウム0.3重量部、実施例A-4の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質2.0重量部、エタノール5.0重量部、感光素201号0.0001重量部、エチルパラベン0.1重量部、水を加えて総量を100重量部とし、混合溶解し、化粧水を調製した。本品は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質を含有しているので、保湿性に優れている上、皮膚に対する刺激性が低いので、過敏症を懸念することなく、肌荒れ、皮膚刺激やかゆみの予防などに利用できる。また、皮膚に塗布してもべた付き感のない、使用感に優れた、化粧水である。

## 【0073】

## 【実施例B-14】

## &lt;リンス&gt;

流動パラフィン2.5重量部、ミリスチン酸0.5重量部、セタノール1.5重量部、モノステアリン酸グリセリン3重量部、ラウロイルグルタミン酸ポリオキシエチレンオクチルドデシルエーテルジエステル1重量部、ピログルタミン酸イソステアリン酸ポリオキシエチレンジセリル0.5重量部を加熱混合した後に、実施例A-3の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質3重量部、1,3-ブチレンジコール3重量部、感光色素301号0.01重量部、ラウロイル-レーリジン2.5重量部、脂肪酸1-アルギニンエチルピロリドンカルボン酸塩0.5重量部、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム0.5重量部、糖転移ルチン0.1重量部、ピロリドンカルボン酸ナトリウム1重量部、センブリエキス1重量部に精製水74重量部を加えて加熱混合したものを混合し、常法により、乳化してリンスを調製した。本品は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド含有糖質を含有しているので、グリセリンを使用していないにもかかわらず、保湿性に優れている上、べタ付き感のない、使用感に優れたリンスである。

## 【0074】

## 【実施例B-15】

## &lt;スキンクリーム&gt;

実施例A-1の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末4重量部に対し、モノステアリン酸ポリオキシエチレングリコール2重量部、自己乳化型モノステアリン酸グリセリン5重量部、 $\alpha$ -グリコシルルチン2重量部、流動パラフィン1重量部、トリオクタン酸グリセリル10重量部、及び防腐剤の適量を加え、これを常法に従って加熱溶解し、更に1、3-ブチレングリコール5重量部、及び精製水6重量部を加え、ホモゲナイザーにかけて乳化し、適量の香料を加えて攪拌混合し、スキンクリームを製造した。本品は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有しているので、保湿性に優れ、伸びのよいクリームで、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

## 【0075】

## 【実施例B-16】

## &lt;練歯磨&gt;

実施例A-2の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末12重量部に対し、第二リン酸カルシウム4.5重量部、ラウリル硫酸ナトリウム1.5重量部、グリセリン2.5重量部、ポリオキシエチレンソルビタンラウレート0.5重量部、サッカリン0.02重量部、防腐剤0.05重量部、及び水1.6重量部とを混合して練歯磨を得た。本品は、本品は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有しているので、適度の粘度を有し、使用感に優れ、しかも、光沢、洗浄力も良好な練歯磨である。

## 【0076】

## 【実施例B-17】

## &lt;経管栄養剤&gt;

実施例A-1の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末8.0重量部と、乾燥卵黄1.90重量部、脱脂粉乳2.09重量部、塩化ナトリウム4.4重量部、塩化カリウム1.85重量部、硫酸マグネシウム4重量部、チアミン0.01重量部、アスコルビン酸ナトリウム0.1重量部、ビタミンEアセテート0.6重量部、及びニコチン酸アミド0.04重量部からなる配合物を調製した。この配合物を25gずつラミネートアルミ製小包に充填し、ヒートシールして製品を得た。本品は、1袋分を約150乃至300mlの水に溶解して栄養補給液とし、経管方法により、鼻腔、食道、胃などへ投与して使用する。

## 【0077】

## 【実施例B-18】

## &lt;外傷治療用軟膏&gt;

マクロゴール(400)45.0質量部、カルボキシビニルポリマー3質量部、ブルラン1質量部、イソプロパノール40.0質量部に対してグルコン酸クロルヘキシジン液1質量部を加えて、真空混合攪拌し、これに、実施例A-1の方法で得た結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド粉末7.0質量部、水酸化ナトリウム3質量部、精製水7.7質量部を加えて混合し、適度の伸び、付着性を有する外傷治療用軟膏を得た。本品は、 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドを含有していることから、保湿性に優れ、使用後のベタ付きもなく、塗り心地もよく、創面に直接塗布するか、ガーゼ等に塗るなどして患部に使用することにより、切傷、擦り傷、火傷、水虫、しもやけ等の外傷を治療することができる。

## 【0078】

## 【発明の効果】

本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドとこれを含有する糖質は、著しく吸湿性が低い優れた特徴を有している。したがって、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドとこれを含有する糖質は、吸湿性が低く、固結や潮解を起こし難く、流動性を失い難く、保存安定性に優れている。また、本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシド及びこれを含有する糖質は、上品な甘味の甘味剤、呈味改良剤、品質改良剤、ボディー付与剤、粘度調節剤、保湿剤、照付与剤などとして、更には、栄養補給剤などとして、広く飲食物、化粧品、医薬部外品、医薬品、生活用品、農林水産用品、試薬、化学

工業用品などの各種組成物に有利に用いることができる。

【0079】

また、本発明の製造方法及び変換方法によれば、結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドとこれを含有する糖質を工業的に大量かつ安価に製造することができる。

【0080】

このように、本発明は、食品、化粧品、医薬部外品、医薬品分野のみならず、生活用品、農林水畜産用品、試薬、化学工業用品等の各種分野に貢献すること誠に多大な意義ある発明である。

【図面の簡単な説明】

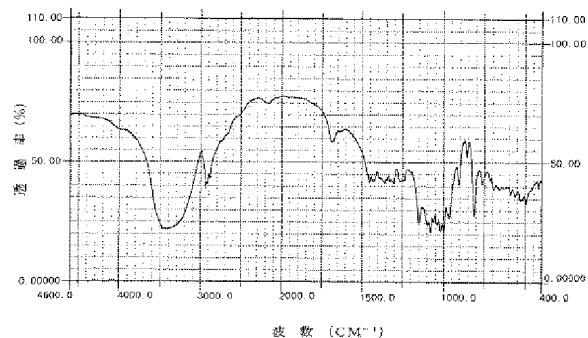
【図1】本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの赤外線吸収スペクトルである。

【図2】本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの柱状結晶写真である。

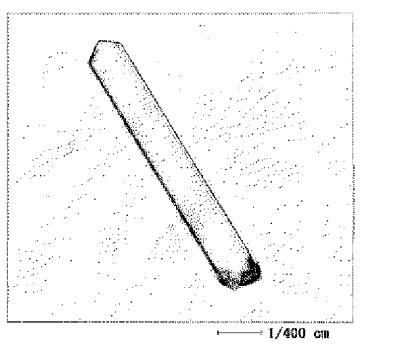
【図3】本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの粉末X線回折スペクトルである。

【図4】本発明の結晶 $\alpha$ -D-グルコシル $\alpha$ -D-ガラクトシドの示差走査熱量計分析図である。

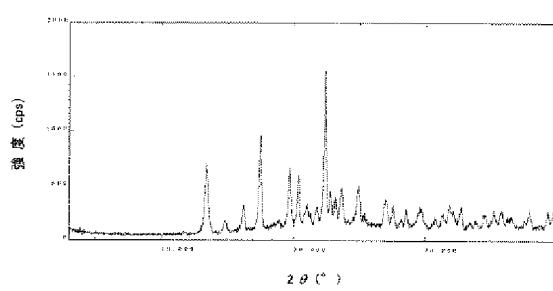
【図1】



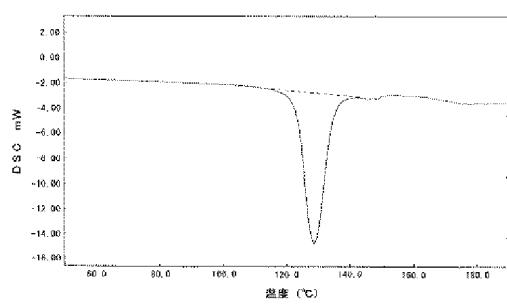
【図2】



【図3】



【図4】



F ターム(参考) 4B041 LC01 LC07 LK11

4B047 LB09 LF01 LF02 LF03 LF04 LF05 LF07 LF08 LF09 LG23

LP18

4B064 AF03 CA21 CC06 CE09 CE11 CE15 CE16 DA01 DA10

4C057 AA30 BB03